



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Genética y Biotecnología

**Caracterización bioquímica y estructural de una
enzima fosfolipasa A2 del veneno de la serpiente
peruana *Bothrops pictus* "Jergón de costa"**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Biólogo Genetista
Biotecnólogo**

AUTOR

Wolfram Heinrich SEIFERT DÁVILA

ASESOR

Fanny Elizabeth LAZO MANRIQUE

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Seifert, W. (2017). *Caracterización bioquímica y estructural de una enzima fosfolipasa A2 del veneno de la serpiente peruana Bothrops pictus "Jergón de costa"*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Genética y Biotecnología]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO GENETISTA BIOTECNÓLOGO
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)**

Siendo las 10:20 horas del 27 de febrero de 2017, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al Título Profesional de Biólogo Genetista Biotecnólogo de **WOLFRAM HEINRICH SEIFERT DÁVILA**.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° 001-EPGB-2017, el titulando expuso su tesis: **CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y ESTRUCTURAL DE UNA ENZIMA FOSFOLIPASA A2 DEL VENENO DE LA SERPIENTE PERUANA *Bothrops pictus* "JERGÓN DE COSTA"** y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 19, calificativo: Sobresaliente con mención.

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Genética y Biotecnología, y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el Título Profesional de Biólogo Genetista Biotecnólogo a **WOLFRAM HEINRICH SEIFERT DÁVILA** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 14:30 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 27 de febrero de 2017.

Mg. ENRIQUE ESCOBAR GUZMAN
(PRESIDENTE)

Dra. FANNY LAZO MANRIQUE
(ASESORA)

Mg. CARMEN PANTIGOSO FLORES
(MIEMBRO)

Bigo. MIGUEL NEIRA GONZALES
(MIEMBRO)

RESUMEN

Se ha purificado la isoforma ácida presente en el veneno de *Bothrops pictus* mediante el uso de dos pasos cromatográficos: CM Sephadex C-50 seguido de Superdex 75 10/300 GL, lográndose un rendimiento de 7.5% y un factor de purificación de 19.8 veces. Se obtuvo una sola banda con un peso molecular de 16.6 kDa en condiciones reductoras y 15.2 kDa en condiciones no reductoras empleando la técnica de PAGE-SDS. Se determinó el peso molecular en solución mediante la técnica de dynamic light scattering obteniéndose una única población de proteínas monodispersa de radio hidrodinámico de 4.254 ± 0.778 (nm) correspondiente a un peso molecular de 19.7 ± 3.7 kDa. La enzima BpicPLA₂ácida es altamente termoestable debido a que mantiene casi intacta su actividad incluso después de incubarla por 10 min a 100 °C. El ion que incrementó en mayor medida su actividad fue el calcio y el agente con mayor inhibición fue el ditiotreitol. Los estudios de dicroísmo circular demostraron que la estructura secundaria predominante en la BpicPLA₂ácida son las α hélices. La secuencia de aminoácidos de BpicPLA₂ácida tomada del GenBank muestra la presencia de un sitio catalítico (His48, Asp49, Tyr52 y Asp99) conservado, mientras que el sitio de unión a calcio no es completamente conservado, debido a una mutación en la posición 28 de la tirosina por fenilalanina. El modelo de la estructura tridimensional reportado, demuestra que la isoforma BpicPLA₂ácida es una enzima que pertenece a la familia de las fosfolipasas A₂ de la clase II y que además presenta una mayor relación evolutiva con otras PLA₂ ácidas.

Palabras clave: *Bothrops pictus*, Fosfolipasa A₂, isoforma ácida, dynamic light scattering, dicroísmo circular.

ABSTRACT

The acid isoform present in the *Bothrops pictus* venom has been purified by the use of two chromatographic steps: CM Sephadex C-50 followed by Superdex 75 10/300 GL, achieving a yield of 7.5% and a purification factor of 19.8 times. A single band was obtained with a molecular weight of 16.6 kDa under reducing conditions and 15.2 kDa under non-reducing conditions using the PAGE-SDS technique. Also, it was determined the molecular weight in solution of the enzyme under study by the dynamic light diffusion technique obtaining a single population of monodisperse proteins with a hydrodynamic radius of 4.254 ± 0.778 (nm) corresponds to a molecular weight of 19.7 ± 3.7 kDa. The enzyme BpicPLA₂ácida is highly thermostable because it maintains almost intact its activity even after incubating it for 10 minutes at 100 °C. The ion that increased its activity to a greater extent was calcium and the agent with the highest inhibition was dithiothreitol. Circular dichroism studies showed that the predominant secondary structure in BpicPLA₂ácida are the α -helix. The amino acid sequence of BpicPLA₂ácida taken from GenBank shows the presence of a conserved catalytic site (His48, Asp49, Tyr52 and Asp99), while the calcium binding site is not entirely conserved, by a mutation at position 28 of tyrosine by phenylalanine. The three-dimensional report structure model demonstrates that the BpicPLA₂ácida form is an enzyme that belongs to the class II phospholipase A₂ family and also has a higher ratio to other acidic PLA₂.

Keywords: *Bothrops pictus*, Phospholipase A₂, acid isoform, dynamic light scattering, circular dichroism.